

## СОСТОЯНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ ЭРИТРОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА В УСЛОВИЯХ ДЕФИЦИТА ЦИНКА *IN VITRO*

Гармаза Ю.М., Зубрицкая Г.П., Кутько А.Г., Канащ Ю.С.,  
Слобожанина Е.И.

ГНУ “Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси”,  
Минск, Беларусь

В настоящее время дефицит цинка в организме считается мировой проблемой. По данным ВОЗ около 2 млрд. людей на Земле потребляют недостаточное количество этого микроэлемента и поэтому не удивительно, что почти 10% населения имеют риск развития Zn-дефицитных состояний. Неоспоримая важность цинка в функционировании клеток свидетельствует о том, что широкое распространение его дефицита имеет связь с повышенным риском развития хронических заболеваний. Наиболее очевидной взаимосвязью между дефицитом цинка и развитием патологий считается именно функция  $Zn^{2+}$  как антиоксиданта. Существует достаточно доказательств того, что недостаток цинка в организме человека сопровождается неконтролируемой генерацией активных форм кислорода, которая индуцирует повреждение белков, липидов и ДНК. Повреждение ДНК, в свою очередь, может приводить к мутациям и это объясняет эпидемиологическую связь между недостатком цинка и хроническими заболеваниями, в том числе и злокачественными новообразованиями. Однако до сих пор первоначальный источник окислительного стресса при дефиците цинка остается неизвестным. Существует предположение, что статус цинка в клетках крови человека напрямую определяется активностью ключевых антиоксидантных ферментов. Цель работы - оценить состояние антиоксидантной системы эритроцитов человека в условиях дефицита цинка *in vitro*.

Для моделирования состояния дефицита цинка *in vitro* в эритроцитах человека проводилась 30-минутная экспозиция клеток с внутриклеточным хелатором N',N'-тетраakis-(2-пиридил-метил)-этилендиамином (TPEN) и внеклеточным хелатором - диэтилен тридиаминпентауксусной кислотой (DTPA) в субгемолитических концентрациях 10–100 мкМ. Оценка изменения цитозольной концентрации лабильных ионов цинка в эритроцитах человека с помощью флуоресцентного зонда FluoZin-3-AM после инкубации клеток с хелаторами выявила статистически достоверное дозозависимое снижение внутриклеточного пула  $Zn^{2+}$  в среднем на 10–50%.

Проведен сравнительный анализ состояния антиоксидантной системы защиты эритроцитов в условиях моделирования условий дефицита цинка. Известно, что наиболее важным элементом системы глутатиона является фермент глутатионпероксидаза (ГП), которому принадлежит основная роль в утилизации липидных гидроперекисей и пероксида водорода. Нами установлено статистически значимое снижение активности ГП, как при внутриклеточном хелатировании  $Zn^{2+}$  (до 60% по сравнению с интактными клетками), так и при использовании мембранонепроницаемого хелатора ДТРА (до 70–75%). При этом, активность каталазы – функция, которой также заключается в утилизации пероксида водорода, была снижена, как при действии ТРЕН, так и при действии ДТРА, но в меньшей степени. Максимальный эффект ингибирования (до 35%) наблюдался при воздействии на эритроциты хелаторов обоих типов в концентрации 25 мкМ. Как известно, это можно объяснить тем, что в эритроцитах при высокой скорости образования пероксида водорода ( $10^{10}$ – $10^9$  моль  $H_2O_2$  на 1 мг гемоглобина в 1 мин) преобладает активность ГП, а при низкой скорости образования  $H_2O_2$  ( $10^9$ – $10^7$ ) – защитное действие оказывает в основном каталаза.

В то же время при хелатировании  $Zn^{2+}$  в эритроцитах было обнаружено разнонаправленное изменение уровня восстановленного глутатиона (GSH) – главного низкомолекулярного антиоксиданта. Если воздействие ТРЕН в концентрациях 10 и 25 мкМ приводило к незначительному снижению GSH, то инкубация клеток с 50 и 100 мкМ ТРЕН – к статистически значимому увеличению уровня GSH в среднем на 10%. Инкубация же эритроцитов с внеклеточным хелатором цинка ДТРА в концентрациях 10, 50 и 100 мкМ не вызывала изменений уровня GSH, но воздействие ДТРА в концентрации 25 мкМ на эритроциты увеличивало концентрацию GSH в клетках на 10–15%. Объяснением этого факта может явиться механизм действия ДТРА, а именно, рецепторный запуск высвобождения ионов цинка из депо клетки из-за их хелатирования на поверхности мембраны.

Полученные данные подтверждают гипотезу, что одним из возможных механизмов развития окислительного стресса в условиях дефицита цинка в организме может являться ингибирование активности основных ферментов антиоксидантной защиты клеток.

*Работа выполнена в рамках гранта БРФФИ Б14М–066.*